



**Universidad
Zaragoza**

Trabajo Fin de Grado

**Los sensores (bio)químicos y los métodos de
screening en química analítica**

**(Bio)chemical sensors and screening methods in
analytical chemistry**

Autor

Elisa García Rodríguez

Director

José María Mir Marín

FACULTAD DE CIENCIAS

Departamento Química Analítica

Convocatoria de Junio

Curso 2017/2018

ÍNDICE

1. Resumen	2
2. Objetivos	3
3. Introducción	4
4. Métodos de screening	5
4.1 ¿Qué es el screening?	5
4.2 ¿Para qué se emplea el screening?	5
4.3 Validación de métodos de screening	6
4.3.1 Métodos de evaluación	7
4.4 Tipos de screening	9
4.4.1 Screening de analito	9
4.4.2 Screening de muestra	10
4.5 Aplicaciones - Test kits	11
5. Sensores	12
5.1 ¿Qué es un sensor?	12
5.2 Partes de un sensor	12
5.2.1 Elementos de reconocimiento	13
5.2.2 Inmovilización	14
5.2.3 Transductores	15
5.3 Clasificación de los sensores	17
6. Algunos usos de sensores y screening	17
6.1 Screening	17
6.2 (Bio)sensores	18
6.2.1 Transducción electroquímica	18
6.2.2 Transducción óptica	20
6.3 Test de embarazo	22
6.4 Alcohómetro	22
6.5 Determinaciones simultáneas	23
6.6 Sensores biomiméticos	23
6.7 Pruebas de diagnóstico – Biopsias líquidas	24
7. Conclusiones	25
8. Bibliografía	26

1. Resumen

La necesidad de métodos con suficiente precisión, económicos y rápidos en el ámbito de la química analítica derivó en el desarrollo de los denominados métodos analíticos de screening, sistemas de medida de carácter cualitativo que permiten realizar un gran número de análisis en un breve periodo de tiempo expresando las respuestas de forma binaria. Estos ofrecen la posibilidad de realizar métodos IN-LINE, en los que el analizador se pone en contacto con la muestra mediante los denominados sensores, como una alternativa a los métodos ON-LINE, en los que la muestra va al analizador. Cada vez hay más equipos de investigación que buscan mejorarlos y llevarlos a más áreas, como controles de calidad, clínica o medioambiente, puesto que colaboran a simplificar el método, automatizarlo y miniaturizarlo. Utilizándolos podemos identificar analitos concretos, realizando screening de analitos, o clasificar las muestras, screening de muestra. Para ello los sensores pueden reconocer moléculas, iones o sistemas biológicos (estos últimos son los más novedosos y específicos). Tras realizar ese reconocimiento tienen que originar una señal, óptica o eléctrica, que posteriormente se lleva a un analizador para obtener una respuesta en tiempo real. Gracias al empleo de estos sistemas podemos descartar de manera rápida patologías, contaminantes u otras sustancias de interés en el estudio a realizar y evitamos el uso de técnicas más costosas y lentas innecesariamente.

Abstract

The necessity of economic, fast and accuracy methods in the analytical chemistry field led to the development of screening analytical methods, qualitative measurement systems that can make a large amount of analysis in a short period of time expressing the answer in a binary form. They offer the possibility of performing IN-LINE methods, in which the analyzer goes to the sample with sensors, instead of ON-LINE, in which the sample goes to the analyzer. Today there are more and more investigation groups that research how to improve and apply them to more areas, such as quality controls, clinics or environment, because with them we can simplify, automate and miniaturize the method. Using them we can identify specific analytes, making analyte screening, or classify samples, making sample screening. For this the sensors can recognize molecules, ions or biological systems (the most novel and specific). After making the recognition they have to generate a signal, optical or electrical, that is afterwards taken to an analyzer in order to obtain a real time response. Thanks to the use of these systems we can quickly discard pathologies, contaminants or other substances of interest in our study and avoid the use of more expensive and slower techniques unnecessarily.

2. Objetivos

El objetivo general de esta memoria es la realización de un trabajo bibliográfico original y crítico basado en la búsqueda de información en fuentes contrastadas acerca de métodos de screening, centrándose en los fundamentados en sensores. Teniendo como base ese objetivo se establecen los siguientes específicos:

1. Realización de búsquedas bibliográficas basadas en los conocimientos de química analítica sobre los conceptos del tema tratado en el trabajo.
2. Cotejar la información obtenida de diversas fuentes seleccionando aquellas susceptibles de ser empleadas en determinaciones (bio)químicas.
3. Profundizar y dar a conocer un tema de la química que sigue ampliándose en la actualidad.
4. Realizar una revisión actualizada en diferentes bases de datos de las posibles aplicaciones de los conceptos fundamentales del trabajo.

3. Introducción

La química analítica tiene como finalidad la búsqueda de una respuesta a un problema económico-social o científico-técnico debido a una necesidad de información analítica. Dicha respuesta tiene que darse con cierta calidad metrológica, demandada por el cliente, cada vez más exigente. Por ello la química analítica va encaminada hacia la mejora de los métodos de análisis existentes y el desarrollo de nuevos procedimientos.^[1]

Una de sus tendencias básicas es el empleo de sistemas analíticos de respuesta rápida, lo que deriva en un creciente interés por el empleo de sistemas de medida que no requieran tratamiento en las muestras, como es el caso de los métodos de screening basados en sensores. Estos además de a la rapidez también contribuyen en tendencias muy destacadas en la química analítica actual, como es la automatización (reducción de la intervención humana), miniaturización (reducción del tamaño) y simplificación del método.^[2]

Gracias a las características de los sensores la combinación de ambos los hace idóneos para diversas áreas, como es el caso de controles de calidad, control de tóxicos, controles de drogas y alcohol, medioambiente, industrias, laboratorios, ámbito clínico... Permitiendo realizar seguimientos de diversos analitos en muestras muy diferentes.

En vez de emplear un único sensor hay sistemas que utilizan varios, denominados multisensores, que permiten realizar varias determinaciones de manera simultánea, aumentando aún más las posibilidades de aplicación de los mismos. Los más conocidos son las narices y lenguas electrónicas que pueden emplearse para, por ejemplo, comprobar la autenticidad y adulteración en alimentos^[3] además de diversas enfermedades.^[4]

El ámbito clínico es de los más estudiados, puesto que presenta la posibilidad de descartar patologías de manera rápida (ya que los sensores permiten obtener respuestas en tiempo real) y a bajo coste (puesto que su empleo reduce la cantidad de métodos analíticos tradicionales a emplear). Además, debido a la gran especificidad y afinidad de los anticuerpos por sus antígenos, empleando sensores de inmunoensayo las posibles confusiones en la detección de una enfermedad son mínimas. Esta combinación (método de screening con inmunosensores) es la base de las pruebas de diagnóstico, técnicas rápidas no invasivas, como las pruebas de embarazo.^[5] Llevan inmovilizados anticuerpos en su superficie y al ponerlos en contacto con la muestra, orina en este caso, y esperando unos segundos podemos descartar o confirmar un diagnóstico, si está o no embarazada. Mediante estos biosensores también es posible detectar patologías de gravedad, como es el caso de los marcadores tumorales de cáncer de próstata, y realizar un screening del mismo entre los pacientes de una clínica. Más adelante hablaremos en mayor profundidad de este funcionamiento.

En la actualidad se están desarrollando dispositivos que puedan hacer esas determinaciones simultáneas pero empleando uno o dos sensores de baja selectividad. Esto

puede conseguirse empleando modos no estacionarios de funcionamiento. Uno de estos sensores sería un MOX (óxidos metálicos) para la detección selectiva de gases. ^[6]

También existen sensores biomiméticos. Estos sustituyen las moléculas biológicas por imitadores biológicos que mimetizan la función realizada por los receptores con la ventaja de ser extremadamente robustos y no requerir condiciones de almacenamiento tan restrictivas. Pueden usarse, por ejemplo, para detectar antibióticos sin necesidad de marcado molecular. ^[7]

4. Métodos de screening

4.1 ¿Qué es el screening?

El screening, o criba, es un sistema de análisis que surge principalmente debido a una necesidad: Poder realizar un mayor número de análisis en menos tiempo. Mediante su uso podemos diferenciar las muestras en dos clases, las que necesitan un método analítico tradicional posterior y las que no. Su aplicación más remarcable es en el campo de la medicina, donde estos análisis simples se emplean para descartar o confirmar patologías de manera rápida entre un gran número de pacientes. ^[8]

Puede ser de varios tipos (de analito y de muestra), dentro de los cuales también se producen diferenciaciones, y se puede llevar a cabo mediante distintos procedimientos (de equipamiento y operaciones simples). No obstante, hay cinco características principales que tienen en común todos, o casi todos ellos (3 mínimo), y los diferencian de los métodos analíticos tradicionales: ^[9]

- Proporcionan una respuesta binaria (SI/NO) que a veces requiere confirmación mediante un método convencional.
- La respuesta (SI/NO) se emplea de manera inmediata en la toma de decisiones.
- Son rápidos
- Tienen poco o ningún tratamiento de muestra
- Tienen mayor énfasis cualitativo que cuantitativo. No obstante, la respuesta binaria puede tener connotaciones cuantitativas, por lo que hay que tener en cuenta valores como el límite de detección de la técnica, el umbral impuesto por el cliente (o la legislación), punto de corte o las incertidumbres.

De tal forma que, en contraposición con el análisis cuantitativo que expresa su resultado como un valor seguido de su incertidumbre, los métodos de screening lo expresan como Si/No más una inseguridad, determinada mediante métodos de validación.

4.2 ¿Para qué se emplea el screening?

Un screening principalmente se emplea para reducir el número de muestras que tienen que someterse a un tratamiento analítico más complejo y para dar resultados de manera más

rápida. Para poder explicarlo podemos poner como ejemplo la manifestación de la Triquinosis en poblaciones rurales de Santa Cruz. La triquinosis es una enfermedad transmitida al ser humano mediante el consumo de carnes contaminadas con larvas viables de *Trichinella spiralis*. Se realizó un screening a 318 muestras de suero mediante la prueba ELISA con antígeno excretor-secretor de larvas de 2º estadio. Tras los resultados del mismo las muestras que dieron como respuesta SI (posible presencia de anticuerpos para dichas larvas) fueron sometidas a una confirmación mediante inmunofluorescencia indirecta, empleando como antígeno cortes de larvas de *T.spiralis*. Los resultados fueron los mostrados en la tabla 1.

Población Número	Screening primario		Confirmación	
	ELISA	E/S %	IFI	%
318	36/318	11.3	31/36	86

Tabla 1. Eficiencia del Sistema de diagnóstico para Triquinosis

Nota. Recuperado de Revista Medicina, Buenos Aires, 1997, vol 57 (supl 3)

Con ello podemos decir que el 11.3% pueden contraer dicha enfermedad, y por tanto hay que realizar un análisis en mayor profundidad. Si no se hubiera realizado un screening primero dicho análisis tendría que haber sido realizado en las 318 muestras, en lugar de en 36. ^[10]

Los métodos de screening no solo se usan en medicina, sino que también se emplean en otras áreas como control medioambiental o control de calidad en los alimentos. No obstante, antes de poder ser empleados es necesario validarlos.

4.3 Validación de métodos de screening

La validación de un método analítico consiste en verificar su adecuación a unos requisitos establecidos por el usuario. Puede realizarse en un único laboratorio o mediante un estudio interlaboratorios empleando procedimientos establecidos por la legislación. En el caso de los métodos cualitativos de Screening deben determinarse las siguientes características obligatoriamente: Límite de detección, selectividad/especificidad y aplicabilidad/robustez/estabilidad. ^[11]

Si estamos ante pruebas clínicas es especialmente importante la verificación de la sensibilidad y la especificidad de la prueba, ya que estas determinan los falsos negativos y falsos positivos, errores asociados a estos sistemas mostrados en la tabla 2.

	Falso negativo (FN)	Verdadero negativo (VN)	Falso positivo (FP)	Verdadero positivo (VP)
Resultado screening	NO	NO	SI	SI
Persona afectada	SI	NO	NO	SI

Tabla 2. Errores asociados a los sistemas de screening

La sensibilidad es la probabilidad de que suceda un verdadero positivo, mientras que la especificidad un verdadero negativo. También hay que tener en cuenta los valores predictivos positivos y negativos de nuestro screening, es decir la probabilidad de que una persona que padece la enfermedad de un resultado positivo en el screening y una que no la padece de uno negativo. ^[12]

4.3.1 Métodos de evaluación

Para poder caracterizar un sistema de screening podemos emplear distintos métodos, como es el caso de tablas de contingencia, test estadístico de hipótesis, teorema de bayes y curvas características de funcionamiento.

- Tablas de contingencia

Se trata de una técnica de comparación entre variables cualitativas. Las más simples son las tablas 2x2, dos variables con dos características o respuestas cada una. En nuestro caso las variables serían los resultados obtenidos con screening frente a los obtenidos con un método de referencia. Las respuestas de una de las variables se colocan en las columnas mientras que las de la otra en las filas, disponiéndose como en la tabla 3.

		Método de referencia		
		Igual o superior	Inferior	Total
Método de screening	Positivo	VP	FP	VP+FP
	Negativo	FN	VN	FN+VN
	Total	VP+FN	FP+VN	N

Tabla 3. Ejemplo de cómo sería una tabla de contingencia

Siendo N el número total de ensayos. ^[13]

Con ellas podemos conocer los falsos positivos y negativos, la sensibilidad(S) y la especificidad (E) del método de screening. Además, es posible calcular los valores predictivos negativos (VPN) y positivos (VPP), como indica la figura 1.

$$S = \frac{VP}{VP + FN} \quad E = \frac{VN}{VN + FP} \quad VPP = \frac{VP}{FP + VP} \quad VPN = \frac{VN}{FN + VN}$$

Figura 1. Ecuaciones empleadas para calcular distintos parámetros de nuestro sistema de screening

- Teorema de Bayes

Nos permite calcular la probabilidad de que suceda un evento A dado el evento W, en nuestro caso de dar un verdadero positivo (o negativo) cuando lo es realmente.

Consiste en emplear las expresiones de la figura 2. ^[14]

$$P(A/W) = \frac{P(A) P(W/A)}{P(A) P(W/A) + P(B) P(W/B)} \quad P(B/W) = \frac{P(B) P(W/B)}{P(A) P(W/A) + P(B) P(W/B)}$$

Figura 2. Ecuaciones del teorema de Bayes.

Teniendo en cuenta que el significado de las siglas de las ecuaciones es el presentado en la tabla 4.

	P(A/W)	P(B/W)	P(A)	P(B)	P(W/A)	P(W/B)
Probabilidad de obtener	Verdaderos positivos	Verdaderos negativos	Resultado positivo	Resultado negativo	Resultado falso (+)	Resultado falso (-)

Tabla 4. Significado de las siglas empleadas en el teorema de Bayes.

- Test de hipótesis

Consiste en plantear dos hipótesis, contrarias entre sí, y decidir mediante una regla de decisión cuál es la verdadera. Una de ellas, denominada hipótesis nula (más perjudicial), no se rechazará excepto si la evidencia es inconsistente con ella, en cuyo caso pasará a ser correcta la hipótesis alternativa.

Al realizar este test nos encontramos con dos tipos de errores: Error tipo I, rechazar la hipótesis nula siendo cierta, y tipo II no rechazarla siendo falsa.

	Hipótesis aceptada	
Hipótesis cierta	Hipótesis nula	Hipótesis alternativa
Hipótesis nula	Sin error	Error tipo I
Hipótesis alternativa	Error tipo II	Sin error

Tabla 5. Ejemplo de tabla de test de hipótesis

La probabilidad de que suceda un error de tipo I se denomina α y la de tipo II β , ambas con un valor pequeño entre 0 y 1. ^[15] Si controlamos ambas podemos estimar la probabilidad de equivocarnos al emplear nuestro método de screening.

- Curvas características de funcionamiento

Generalmente se emplean curvas ROC (Receiver Operating Characteristic o Curvas de Operatividad Relativa). Se trata de una representación gráfica de la sensibilidad, en ordenadas, frente al inverso de la especificidad, en abscisas, para distintos puntos o niveles de corte.

Calculando el área bajo la curva podemos conocer el rendimiento de la prueba, puesto que un área igual a 1 indicaría que nuestra prueba no tiene ni falsos positivos ni negativos, puesto que su sensibilidad y especificidad es igual a 1 (situación ideal), mientras que un área igual a 0,5 supone que la prueba no distingue entre afectada y no afectada. Por ello se considerarán adecuadas áreas iguales o superiores a 0,8. ^[16]

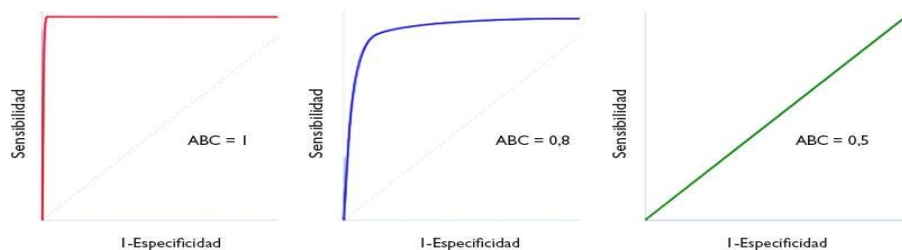


Figura 3. Ejemplos de curvas ROC

Nota. Recuperado de Pruebas diagnósticas con resultados continuos o politómicos. Curvas ROC; Evid Pediatr. 2017, 13 (12)

4.4 Tipos de screening

Podemos dividir los sistemas de screening en dos grupos en función del objeto de screening: ^[17]

- Screening de muestra: Sistemas con connotaciones de análisis o con interés en filtrar las muestras.
- Screening de analito: Sistemas con connotaciones de determinación o con interés en identificar analitos.

4.4.1 Screening de analito

Este término se emplea para designar screenings cuyo objetivo es conocer si una muestra tiene una concentración de analito (o conjunto de analitos) superior respecto a una preestablecida. Si combinamos este tipo de screening con la química combinatoria surgen los sistemas de screening de alto rendimiento o High throughput screening y con ellos las bibliotecas. Estas son unas listas en las que aparece un conjunto de compuestos con una actividad biológica similar.

- Screening de alto rendimiento (High throughput screening)

Parten de la idea de que compuestos similares deberían presentar una actividad biológica similar. A partir de esa idea van desarrollando distintos métodos de síntesis cuyo objetivo es poder validar o ensayar muchas reacciones y secuencias de reacción que puedan ayudar a la creación de las bibliotecas.

Es muy empleado en la industria farmacéutica, ya que mediante ellos es posible identificar principios activos rápidamente, puesto que permite realizar de manera rápida pruebas químicas, genéticas o farmacológicas. De esta forma pueden generarse una gran cantidad de nuevos compuestos, así como caracterizar datos metabólicos, farmacocinéticos y toxicológicos sobre nuevos medicamentos, causando una disminución del precio de los mismos.

En la actualidad el objetivo de la química combinatoria ha dejado de ser crear bibliotecas muy numerosas. Ahora buscan una mejor caracterización de los compuestos, así como una mayor pureza en los mismos. ^[18]

4.4.2 Screening de muestra

Este término se emplea para designar screenings cuyo objetivo es diferenciar entre un conjunto de muestras aquellas que tienen uno o varios analitos en una concentración superior respecto a una preestablecida de las que no. Tiene tres objetivos principales: ^[19]

- Proporcionar una respuesta rápida y fiable sobre una propiedad de la muestra con el objetivo de cumplir una solicitud de información.
- Disminuir el uso de instrumentos de alto coste de adquisición o mantenimiento.
- Reducir o eliminar la preparación de muestra.

En este caso es especialmente importante que la respuesta sea representativa del sistema de análisis considerado. Por ello hay que tener en cuenta las propiedades analíticas de la técnica empleada (exactitud, precisión, sensibilidad, selectividad).

Podemos clasificar este screening en función de varios criterios, como es el caso de: tipo de respuesta binaria, objetivos, formato, lugar en el que se realiza, tratamiento de muestra, relación entre la señal y el analito o el tipo de detección empleado. Esto se muestra en la figura 4 incluida en los anexos. La clasificación más común es en función de la complejidad del tratamiento de muestra, el cual depende del estado de agregación y matriz de la misma, pudiendo distinguir entre screening directo, tras un tratamiento simple y tras un tratamiento complejo.

- Screening directo

Se trata de la situación más favorable, ya que en este método no hay tratamiento previo de la muestra. Se coge una alícuota de esta y se lleva al sistema de screening. Si la respuesta es negativa el análisis ha finalizado, sin embargo, si es positiva esta (o una nueva alícuota) se lleva a un tratamiento analítico tradicional (independiente o no del sistema de screening). La mayoría de estos screenings se utilizan en la determinación de contaminantes en matrices medioambientales, como suelos y aguas. ^[20]

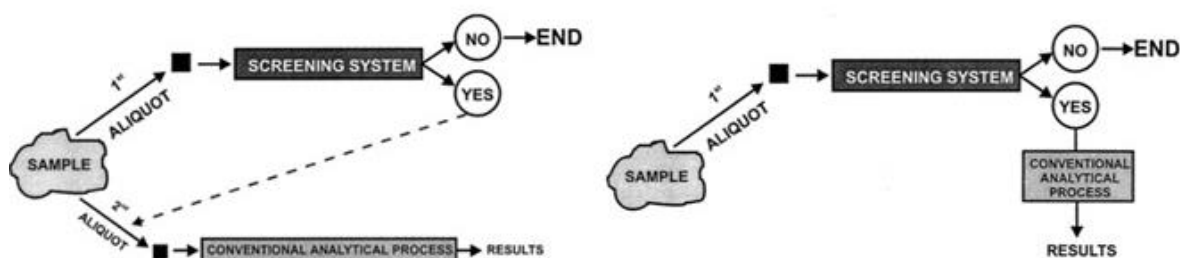


Figura 4. Esquemas de un screening directo

Nota. Recuperado de Trends in analytical chemistry. 1999, vol 18 (no.11), 688

- Screening tras un tratamiento simple

En estos casos el tratamiento ha de ser rápido y no exhaustivo, generalmente una hidrólisis o extracción simple. El procedimiento es muy similar al directo, a excepción de la inclusión de dichos tratamientos y de que si la respuesta obtenida es afirmativa hay que llevar a tratamiento una nueva alícuota. En este tipo se incluyen muchos kits de prueba de inmunoensayo, la mayoría para determinación de drogas en matrices biológicas. [21]

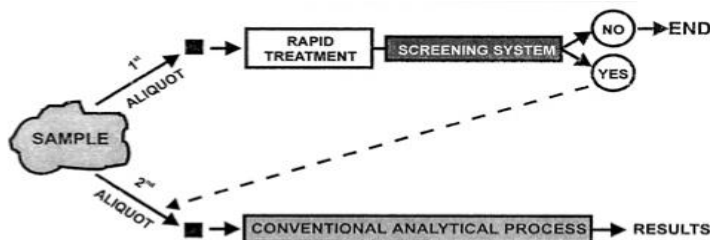


Figura 5. Esquema de un screening tras un tratamiento simple

Nota. Recuperado de Trends in analytical chemistry. 1999, vol 18 (no.11), 689

- Screening tras un tratamiento completo

Es el caso menos favorable y sólo justificado si el tratamiento convencional es más complejo, caro o consume más tiempo. Ejemplos de este tipo sería la realización de screenings de inmunoensayo en frutas y verduras. [22]

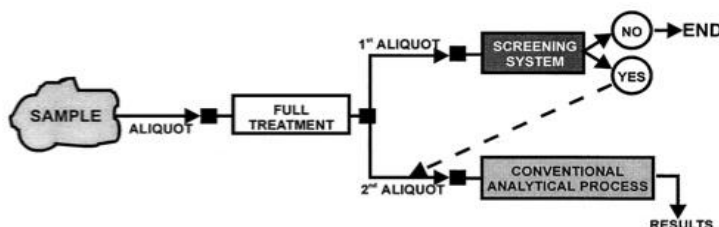


Figura 6. Esquema de un screening tras un tratamiento completo

Nota. Recuperado de Trends in analytical chemistry. 1999, vol 18 (no.11), 689

4.5 Aplicaciones - Test kits

Un ejemplo de screening de muestra directa son los test kits. Se trata de test que contienen una reacción química y una evaluación del sistema para un método analítico concreto. Una ventaja de ellos es que son portátiles, lo que permite obtener una visión general de la situación a bajo coste y en poco tiempo. Los métodos de evaluación pueden dividirse en químicos y biológicos. Los más frecuentes del primer tipo: Visuales (cambio de color), colorimétricos (empleando aparatos auxiliares), titrimétricos, reflectométricos y fotométricos. Y del segundo: Biotest, ensayos enzimáticos e inmunoensayo. [23]

5. Sensores

5.1 ¿Qué es un sensor?

Un sensor es un dispositivo que permite simplificar el proceso analítico. Es capaz de detectar una magnitud, o variable de instrumentación, y adaptarla (transformarla) en otra que el instrumento de medida sí que puede interpretar, generalmente una señal eléctrica. ^[24] Los métodos automáticos que los emplean son in-line. En ellos el analizador se pone en contacto con la muestra mediante sensores, de forma que nosotros vamos a la muestra y no al contrario.

Hay que tener en cuenta que los sensores no son instrumentos ni aparatos, son dispositivos. Hay un orden de jerarquización entre estas tres palabras: Un instrumento materializa la técnica analítica generando datos y está compuesto por aparatos y dispositivos. Un aparato realiza la función, pero no genera información y está compuesto de dispositivos. Un dispositivo realiza propósitos concretos.

En función de la magnitud detectada podemos dividir los sensores en tres categorías: ^[25]

- Sensores físicos: Miden propiedades físicas (temperatura, distancia, presión...)
- Sensores químicos/bioquímicos: Miden analitos particulares mediante reacciones químicas.

Nosotros nos centraremos en los sensores químicos y bioquímicos.

5.2 Partes de un sensor

Podemos distinguir dos partes en un sensor: La zona en contacto continuo con la muestra donde se produce la detección de la señal y la zona donde se produce la transformación de la misma. Tras pasar por esas zonas la información se lleva a un analizador. ^[26] El esquema general de dicho funcionamiento se muestra en la figura 8 y uno más detallado en la figura 9.

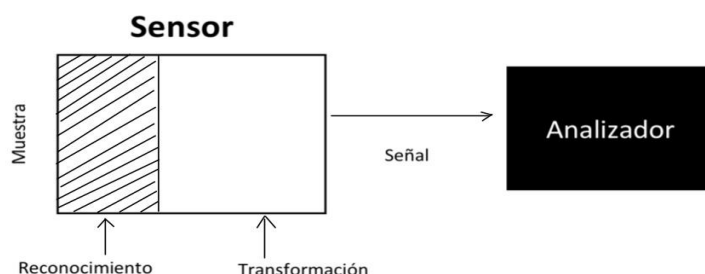


Figura 7. Esquema básico de un sensor.

En la primera zona del sensor se produce la detección del analito (puede ser o no biológico). La diferenciación entre sensores químicos y bioquímicos reside en la manera en que se realiza dicho reconocimiento. Si las reacciones químicas empleadas implican elementos biológicos serán bioquímicos, si no son químicos. En ella hay unos elementos de reconocimiento, que determinan la selectividad que tendrá el sensor frente a los analitos. En

biosensores los más comunes son las enzimas, aunque también pueden ser anticuerpos, ácidos nucleicos o receptores. Dichos elementos tienen que ser inmovilizados y conectados a la segunda zona.

En la segunda zona del sensor, denominada transductor, se realiza la transformación de la variable de instrumentación en una señal que puede ser empleada por el analizador o procesador de la señal. Estos transductores pueden ser de diversos tipos en función de la metodología empleada, como es el caso de electroquímicos, ópticos, térmicos o piezoeléctricos. [27]

La ventaja de estos sistemas es que se obtiene respuesta a tiempo real, sin embargo, presentan el inconveniente de que están en contacto directo con la muestra, sin tratamiento previo, y por tanto existe la posibilidad de interferencias en la medida debidas a la matriz. [28]

5.2.1 Elementos de reconocimiento

El reconocimiento en la primera zona del sensor puede llevarse a cabo de manera iónica, molecular o biológica.

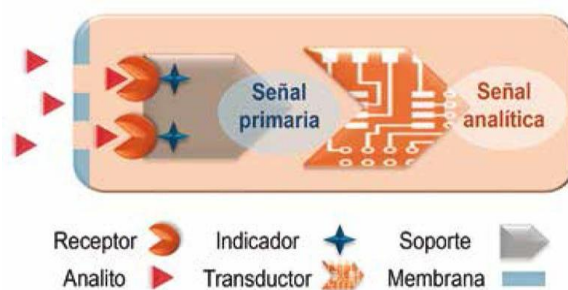


Figura 8. Esquema más detallado de un sensor

Nota. Recuperado de Nanobiosensores ópticos. SEBBM. 2017, 192, 19-23

Reconocimiento iónico

Emplean electrodos selectivos de iones o electrodos modificados (para incorporarles selectividad). Hay que tener en cuenta el coeficiente de selectividad de los mismos y eliminar las posibles interferencias en las muestras en caso necesario. Además de estos pueden emplear dispositivos de conducción, puesto que los iones en disolución pueden conducir la corriente. [29]

Reconocimiento molecular

Puede realizarse de varias formas: [30]

- Formación de complejos, un reactivo se acopla selectivamente al analito de interés y luego responde a un transductor.
- Tamices moleculares que separan y seleccionan moléculas en función de su tamaño.

- En función de la cinética de reacción también es posible controlar la selectividad, puesto que, si la reacción con el analito de interés es muy rápida, no podrán reaccionar los demás.
- Empleando electrodos recubiertos de polímeros (conductores, redox o de intercambio de iones) a los que se unen moléculas concretas o se incorporan a su estructura.
- Mediante análisis espectroscópico infrarrojo (conocer la molécula completa), ultravioleta (alguna estructura concretar), resonancia magnética (atmósfera de distintos átomos) o espectrometría de masas (con el patrón de rotura podemos conocer la molécula completa)

Reconocimiento biológico

Emplean sistemas biológicos que pueden unirse selectivamente al analito de interés. Pueden ser: ^[31]

- *Enzimas*: Complejos macroscópicos con acción catalítica que se unen específicamente a los sustratos, generalmente mediante oxidación y reducción detectada electroquímicamente. Pueden emplearse tanto puros (más caros) como en tejidos tisulares y microorganismos (puede haber interferencias). En estos casos lo que se mide más adelante es la actividad enzimática.
- *Anticuerpos*: Proteínas muy selectivas que se unen a antígenos y no tienen actividad catalítica. Suelen emplearse en inmunoensayo ya que ofrecen la posibilidad de determinar anticuerpos desconocidos mediante marcado (fluorescencia, radioisótopos)
- *Receptores*: Proteínas que atraviesan la bicapa lipídica que al unirse a ligandos particulares desencadenan respuestas fisiológicas. No tienen afinidad por un único analito, si no por un rango de compuestos relacionados.
- *Ácidos nucleicos*: Son los menos empleados. Su selectividad viene dada por su par de bases característico.

En la actualidad podemos enlazar estos receptores con nanopartículas metálicas, nanoclusters metálicos, puntos cuánticos o nanomateriales de carbono. Pueden emplearse en biosensores ópticos actuando como quimiorreceptores de afinidad, soporte sólido (aportando estabilidad y facilitando su manipulación) o indicadores. Este último es el más innovador, puesto que supone una mejor sensibilidad, estabilidad y biocompatibilidad. ^[32]

5.2.2 Inmovilización

Los elementos de reconocimientos como las enzimas o los anticuerpos tienen que estar unidos al transductor. Dichas uniones, o inmovilizaciones, pueden realizarse de diversas formas y generalmente se emplea más de un método. Estos se muestran en la tabla 6.

Tipo inmovilización	Características	Referencia
Absorción	Poca preparación. Sensores que trabajan en periodos cortos de tiempo. Quimisorción: Enlaces covalentes Fisorción: Enlaces débiles (Van der waals)	[33]
Microencapsulación	Atrapamiento tras una membrana inerte. Mayor estabilidad Menor biodegradación y contaminación Inconveniente: Membrana puede ser permeable a materiales no deseados.	[34]
Atrapamiento	Disolución con el biomaterial polimeriza en forma de gel Inconvenientes: Pérdida de la actividad (poros) y generación de barreras (difusión más lenta)	[35]
Reticulación	Unión química a un soporte sólido mediante agentes bifuncionales. Inconvenientes: Daños a la enzima	[36]
Unión covalente	Unión covalente a la matriz del soporte mediante grupos funcionales del biomaterial no esenciales para la actividad catalítica	[37]

Tabla 6. Tipos de inmovilización

La orientación de estos elementos en la superficie del transductor es muy importante, puesto que afecta a la sensibilidad y selectividad del reconocimiento. Para asegurar que se realiza de manera correcta se han desarrollado diferentes procedimientos, como es el caso de los MIPs, o impresión molecular, que emplean una molécula molde para la creación de los sitios de unión.

5.2.3 Transductores

Como ya he nombrado anteriormente los transductores pueden clasificarse según la metodología empleada para realizar la transformación de la variable. Podemos clasificarlos en:

Transductores electroquímicos

Dentro de ellos distinguimos varios grupos: ^[38]

- *Potenciométrico*: Mide el potencial (presión eléctrica o separación de cargas que surge al poner en contacto una disolución con iones con una pieza de metal) de una celda electroquímica en la que no fluye corriente neta. Para realizar el proceso necesitan un electrodo de referencia y un electrodo indicador conectados por una membrana o puente

conductor de electrones y unidos externamente a un dispositivo de medida de potencial. Al conjunto de ambos electrodos se le denomina celda.

- *Voltamperometría o amperometría*: Aplica un potencial conocido de oxidación o reducción en la superficie del electrodo y realiza medidas de la corriente resultante en la celda. Emplean un sistema de tres electrodos (trabajo, referencia y auxiliar). Podemos distinguir tres tipos:
 - Voltametría de barrido lineal. Variación lineal del potencial entre el electrodo de trabajo y el de referencia.
 - Voltametría cíclica. Aplica un barrido de potencial en el electrodo de trabajo tanto en sentido directo como inverso generando un barrido triangular de potencial.
 - Cronoamperometría o amperometría (empleado analíticamente). Aplican un potencial de manera constante y controlan la difusión.
- *Conductimetría*: Medida, mediante un puente de corriente alterna, de la conductancia, o carga iónica, entre dos puntos de diferente potencial.
- *FET (Transistor de Efecto de Campo)*: Controlan un canal que transporta un tipo de portador de carga mediante campo eléctrico. Facilitan la miniaturización de los sensores.

En estos sistemas los electrodos empleados suelen ser microelectrodos, electrodos serigrafiados o electrodos de película delgada. Los electrodos serigrafiados se asemejan a tiras reactivas (química seca) incluyen en su interior el electrodo de trabajo, el de referencia y el auxiliar además de unos contactos eléctricos. Están basados en el depósito de una tinta sobre un sustrato seguido de secado y curado de la misma (generalmente grafito sobre poliéster). Por último, llevan un recubrimiento para dejar expuestos únicamente las conexiones y el electrodo de trabajo.

Transductores ópticos

Se trata de dispositivos fotométricos. Una de las grandes ventajas respecto a los eléctricos es que no necesitan electrodos de referencia ni tienen interferencias eléctricas (aunque si debidas a la luz ambiental), además pueden responder a más de un analito simultáneamente (en distintas longitudes de onda) y pueden contener mayor cantidad de información que los eléctricos, que trabajan de forma secuencial. No obstante, los tiempos de respuesta pueden ser lentos y hay problemas con la estabilidad a largo plazo de los agentes bajo luz ambiental incidente. Podemos distinguir entre varios comportamientos fotométricos: ^[39]

- *Espectroscopía de absorción uv-visible*: Miden la absorbancia de una molécula. La radiación incidente se pasa por un monocromador y posteriormente se mide la intensidad con un fotomultiplicador generando una señal en una longitud de onda determinada.
- *Espectroscopía de fluorescencia*: Emplean un haz de luz para excitar los electrones de ciertas moléculas provocando una emisión de luz de menor energía que podemos medir. Esta pérdida de energía sucede tras la excitación mediante colisiones con otras

moléculas alcanzando un estado vibracional más bajo. Una vez en él sucede la emisión de energía.

- *Luminiscencia*: Miden la emisión de luz (en ausencia de iluminación excitante) tras una reacción química que no genera calor. Si es producida por una reacción de oxidación se denomina quimiluminiscencia, por ejemplo, el luminol. Si lo produce una especie biológica, como las luciérnagas, se denomina bioluminiscencia.

En estos sistemas se emplean fibras ópticas para transmitir la información. La luz se propaga a lo largo de la fibra mediante reflexión interna total, lo que depende del ángulo de incidencia y los índices de refracción de los materiales que la componen.

Piezoelectrónicos

Al absorberse un material en la superficie, relacionado con un cambio en la reacción, del cristal varía su frecuencia de vibración. Esta vibración origina una corriente eléctrica medible.
[40]

Térmicos

Miden la producción o absorción de calor tras un proceso químico/bioquímico.

5.3 Clasificación de los sensores

Podemos dividir los sensores en función de criterios muy diferentes. Ejemplos de ello son: Parámetro monitorizado, tipo de especie inmovilizada, transductor, procesos adicionales, método de trabajo, modo operacional o número de especies monitorizadas. Esto se indica en la figura 10, incluida en los anexos.

6. Algunos usos de sensores y screening

6.1 Screening

Un método para realizar screening de cáncer oral sería la quimioluminiscencia. Está basado en la manera en la que los tejidos actúan en contacto con dicha luz, ya que las células de tejidos normales la absorben mientras que los tejidos anormales la reflejan. Antes de ello los pacientes se someten a un enjuague de una disolución de ácido acético al 1%, lo que permite a la luz penetrar y que se produzca dicho cambio en las propiedades refractarias de los tejidos. De esta manera podemos comprobar si el paciente puede tener cáncer de forma fácil, segura, no invasiva y sin efectos secundarios. [41]

Es posible realizar un screening para la detección rápida de toxicidad en cenizas de las plantas de gasificación. Se puede realizar estudiando mediante absorbancia la viabilidad de células, del pulmón para el efecto en los trabajadores de la planta y del hígado para el público

general que consume agua o comida contaminado con ellas, tras ser expuestas. Con ellas se calcula el IC₅₀ (50% concentración de inhibición máxima) y se clasifican las cenizas en tres grupos en función del nivel de toxicidad. Con esos valores y teniendo en cuenta el área de sus superficies podemos determinar la aplicabilidad de las cenizas, sobre todo para el sector de la agricultura. ^[42]

Screening de toxicidad química mediante conjuntos de sensores electroquímicos, ya que pueden elucidar rápidamente la toxicidad potencial, particularmente la toxicidad mediada por metabolitos. Tras ese primer screening se pasa a cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para obtener más información. ^[43]

6.2 (Bio)sensores

6.2.1 Transducción electroquímica

- Detección de PSA

En la actualidad pueden emplearse sensores electroquímicos para la detección de enfermedades, como es el caso de biosensores para PSA (marcadores tumorales de cáncer de próstata). En la tabla 7 se muestran ejemplos de dos sensores para ello.

Ambos, sobre todo el primero al ser desechable, pueden utilizarse para realizar screenings rápidos de dicha enfermedad entre los pacientes de una clínica.

Reconocimiento	Transducción	Muestra	Modificación del electrodo	Detección de PSA	Rango lineal	Límite de detección	Observaciones	Referencia
Anticuerpos (Inmunoensayo)	Electroquímica	Suero humano	Nanoláminas de grafeno y anticuerpos marcados de peroxidasa de rábano picante funcionalizado con partículas de oro	Electroreducción de H ₂ O ₂ catalizada por el marcador	0.002ng/ml-2.0µg/ml	0.46pg/ml	Electrodos serigrafiados en hojas vegetales de pergamino desechables	[44]
Anticuerpos (Inmunoensayo)	Electroquímica	Suero humano	Nanopartículas de sílica mesoporosas hibridadas con nanopartículas de plata. Mediador de hidroquinona	Cambio en la corriente	0.05-50 ng/ml	15 pg/ml	No tiene marcado molecular, no desechables	[45]

Tabla 7. Algunos biosensores para la detección de PSA.

- Detección de quinasas

Cuatro sensores para determinar algunas quinasas se muestran en la tabla 8.

Primero: la presencia de PNK induce la fosforilación de ADN y la subsiguiente escisión de ADN de doble hebra por exonucleasa lambda, resultando en la liberación de nanopartículas de oro conjugadas con ADN y $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{+3}$ del electrodo de oro y consecuentemente el

decaimiento de la señal. Este biosensor puede emplearse para screening de inhibidores de PNK y cuantificación de PNK en extractos de células.

Segundo: No necesita marcadores moleculares. Detección cuantitativa de fosforilación peptídica de la tirosina usando la corriente de la oxidación electroquímica de la tirosina.

Tercero: No necesita marcadores moleculares. Está basado en la unión entre el péptido fosforilado y ADN funcionalizado con nanopartículas de oro mediante Zr^{+4} (elementos de reconocimiento de fosforilación). La respuesta es coulombimétrica del $[Ru(NH_3)_6]^{+3}$ absorbido.

Cuarto: Basado en la unión de grupos fosfato con nanopartículas de TiO_2 en las que se ha depositado fotocatalíticamente nanopartículas de plata para mejorar la señal.

Detección/ monitorización de	Transducción	Base de la detección	Rango lineal	Límite detección	Observaciones	Referencia
Polinucleótido quinasa (PNK)	Electroquímica	Amplificación de la señal inducida por escisión de exonucleasa lambda mediada por nanopartículas de oro	0.001-10 U/mL	7.76×10^{-4} U/mL	$[Ru(NH_3)_6]^{+3}$ indicador activo electroquímicamente Dos hebras de ADN para detección	[46]
Inhibidores de proteína tirosina quinasa (PTK)	Electroquímica	Detección fosforilación peptídica de la tirosina usando la corriente de oxidación electroquímica de la tirosina.	-	5 U/mL	Electrodo modificado con nanotubos de carbono de pared múltiple	[47]
Actividad e inhibición de proteínas quinasas	Electroquímica	Coordinación péptido fosforilado y ADN funcionalizado con nanopartículas de oro mediante Zn^{+4}	-	0.15 U/mL	$[Ru(NH_3)_6]^{+3}$ indicador activo electroquímicamente	[48]
Actividad e inhibición de proteínas quinasas	Electroquímica	Unión de grupos fosfato con nanopartículas de TiO_2	0-1 U/mL	0.2 U/mL	Deposición fotocatalítica de nanopartículas de plata	[49]

Tabla 8. Algunos sensores para la detección de quinasas

- Detección de hipoxantina

Biosensor enzimático para determinar hipoxantina. Las reacciones que tienen lugar son las observadas en la figura 11.

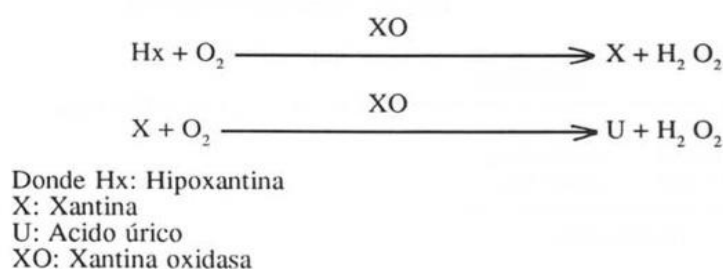


Figura 11. Reacción en el sensor para la detección de hipoxantina.

Consiste en una enzima, *xantina oxidasa*, inmovilizada mediante enlaces covalentes en una membrana de triacetato de celulosa. Está a su vez está conectada con un electrodo de

oxígeno tipo Clark. El consumo de oxígeno se debe a la oxidación de la hipoxantina a ácido úrico y por tanto puede emplearse para determinarla cuantitativamente. ^[50]

- Detección de gases

Dos sensores para determinar etanol y sulfuro de hidrógeno se muestran en la tabla 9.

Detección de	Transducción	Composición del sensor	Respuesta lineal	Límite de detección	Referencia
Vapores orgánicos (etanol)	Eléctrica	Nanovarillas de ZnO alineadas verticalmente y grafeno sobre láminas metálicas	10-40 ppm	-	[51]
Sulfuro de hidrógeno	Eléctrica	Crecimiento de nanovarillas de ZnO alineadas verticalmente en un film de grafeno convertido químicamente	-	2 ppm	[52]

Tabla 9. Algunos biosensores para la detección de gases

La base de la detección en ambos casos es la absorción del oxígeno del entorno en la superficie de las varillas de ZnO. En el primer caso el gas reductor (etanol) sustituye a ese oxígeno superficial, liberando electrones y aumentando la conductividad eléctrica. En el segundo, el sulfuro de hidrógeno reacciona con las especies de oxígeno de la superficie disminuyendo la resistencia del sensor.

6.2.2 Transducción óptica

- Modificación con compuestos fluorescentes

En la tabla 10 se muestran cuatro sensores modificados. Dos para la detección de colina y dos para la detección de peróxido de hidrógeno.

En todos los casos se inmoviliza un compuesto biológico modificado químicamente con un compuesto fluorescente de rutenio para obtener una respuesta óptica.

Detección/ monitorización de	Transducción	Base de la detección	Rango lineal	Observaciones	Referencia
Colina	Óptico	Enzima colina oxidasa modificada con un compuesto fluorescente de Rutenio en una matriz de poliacrilamida	7.78×10^{-5} - 7.78×10^{-4} M	Es autoindicador	[53]
Colina	Óptico	Enzima colina oxidasa modificada con una sal de Rutenio sin la unión de ambos	1.04×10^{-4} - 1.04×10^{-3} M	-	[53]
Peróxido de hidrógeno	Óptico	Cata lasa modificada químicamente con un compuesto fluorescente de rutenio	3.35×10^{-4} - 1.68×10^{-2} M	Puede usarse como autoindicador	[54] [55]
Peróxido de hidrógeno	Óptico	Cata lasa modificada químicamente con un compuesto fluorescente de rutenio acoplada a sensores de oxígeno	5.03×10^{-4} - 1.68×10^{-2} M	-	[54][55]

Tabla 10. Algunos sensores modificados con compuestos fluorescentes

- Con marcadores o tinciones de fluorescencia

En la tabla 11 se recogen cuatro sensores con marcadores de fluorescencia.

Detección de	Transducción	Composición del sensor	Rango dinámico	Límite de detección	Referencia
Hg+2	Óptica (turn on)	Óxido de grafeno soluble en agua con una sonda de oligonucleótido específico	0-623 pM	187 pM	[56]
Pb+2	Óptica (turn on)	Óxido de grafeno soluble en agua con celdas caralíticas de desoxiribozimas marcadas con FAM	1-100 nM	300 pM	[57]
Hg+2	Óptica (turn off)	Óxido de grafeno reducido unido a AO (acridine orange dye)	10nM-100IM	2.8 nM	[58]
Pb+2	Óptica (turn off)	Óxido de grafeno y desoxiribozima dependiente de Pb	1-100 IM	0.5 nM	[59]

Tabla 11. Algunos sensores con marcadores de fluorescencia

Los sensores “turn on” constan de una etiqueta de fluorescencia unida por absorción a un óxido de grafeno reducido. En ellos la adición del analito produce una reacción de

complejación aumentando la distancia entre el marcador y el material y en consecuencia un aumento de la intensidad de fluorescencia.

Los sensores “turn off” son sondas híbridadas marcadas por fluorescencia que no están completamente absorbidas a óxidos de grafeno reducidos. Al aparecer el analito el marcador se absorbe y se produce quenching, desactivación de la fluorescencia. ^[60]

6.3 Test de embarazo

Es un método de screening muy conocido. Se trata de dispositivos ópticos basados en inmunoensayo en los que nosotros seríamos el analizador. Se basa en la medición de la hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) en la orina o la sangre mediante tres tipos de anticuerpos inmovilizados, por lo que podemos decir que cuenta con “tres zonas de reacción”. La prueba (test) se introduce en la muestra, que irá migrando por capilaridad por la membrana. Ante la presencia de hCG su anticuerpo monoclonal se une a ella. Este conjunto se unirá a un segundo anticuerpo policlonal y producirá una coloración. En caso de que dicha hormona no esté presente no se darán esas uniones, no hay coloración. Como indicativo de que la prueba ha funcionado correctamente se inmoviliza un tercer anticuerpo (policlonal), junto con un colorante, que reaccione con los anticuerpos monoclonales que no se han unido a la hCG provocando una segunda coloración. Nosotros de manera visual interpretamos el resultado, una marca significa que el test se ha realizado correctamente y la paciente no está embarazada, mientras que dos marcas que sí lo está. ^[61] En la figura 11 podemos observar los resultados muestra un test de embarazo.

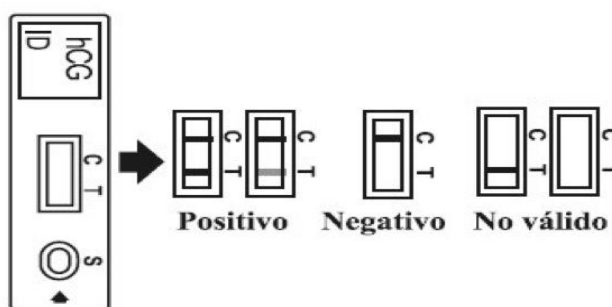


Figura 12. Resultados visuales en un test de embarazo

6.4 Alcohómetro

Un ejemplo práctico y conocido de sensor sería un alcohómetro. En él los niveles de alcohol en aire exhalado pueden obtenerse mediante un sensor de infrarrojos o mediante un sensor basado en una célula electroquímica (fuel cell sensor technology). Debido al mayor coste del primero se buscó esta segunda alternativa, más empleada.

Consta de una capa porosa inerte recubierta de platino negro (platino finamente dividido), que sirve como catalizador, impregnada en una disolución ácida y conectada a un cable de platino. Esto se introduce en una carcasa de plástico con una boquilla. Cuando una persona que

ha consumido alcohol sopla, el etanol procedente de su aliento se oxida a ácido acético en la parte superior de la célula liberando iones H^+ que van a la parte inferior, donde reaccionan con el oxígeno atmosférico para dar agua. Al conectar ambos electrodos, o superficies, eléctricamente, se genera una corriente entre ellos cuya medida será proporcional a la cantidad de etanol en la muestra. Tras ello, se procesa la señal y se muestra en la pantalla la cantidad en sangre de alcohol. ^[62]

Las reacciones que tienen lugar se muestran en la figura 12.

Ánodo	$CH_3CH_2OH(g) + H_2O(l) \rightarrow CH_3CO_2H(l) + 4 H^+(aq) + 4 e^-$
Cátodo	$O_2(g) + 4 H^+(aq) + 4 e^- \rightarrow 2 H_2O(l)$
General	$CH_3CH_2OH(g) + O_2(g) \rightarrow CH_3CO_2H(l) + H_2O(l)$

Figura 13. Reacciones en un alcoholímetro

En un control de alcoholemia, al emplear este alcoholímetro en realidad estamos realizando un screening de muestras, ya que estamos haciendo una criba a los conductores en busca de un analito, el etanol.

6.5 Determinaciones simultáneas

Un ejemplo de multisensor, además de narices y lenguas electrónicas, sería la detección y determinación de alumbre y ácido acético sintético en encurtidos fraudulentos mediante sensores colorimétricos. Para fabricarlos se imprimen 20 indicadores pH y redox en placas de sílica gel. Las especies químicas de los vapores de las muestras interactúan con los indicadores depositados en el sensor y originan un cambio de color. ^[63]

Una determinación múltiple con un único sensor, sería la de acetona y etanol mediante un MOX (metal-oxide sensor). Se trata de un sensor de SnO_2 con paladio y platino con el que trabajamos repitiendo pasos de calentamiento y enfriamiento y midiendo su conductividad. ^[64]

6.6 Sensores biomiméticos

Sensor biomimético inspirado en acetilcolinesterasa (AChE) para predecir la toxicidad de los inhibidores del mismo. Se trata de un sensor con microcanales para realizar screening de toxicidad que emplea oxima como biomímica estructural de AChE para realizar el reconocimiento. Tras unirse sucede una sustitución entre el oxígeno hidrolítico de la oxima y el inhibidor. El oxígeno le ataca formando un complejo inhibidor-oxima que se descompone y produce el ion cianuro. Dicha producción se monitoriza potenciométricamente. ^[65]

Sensor óptico biomimético para detección del antibiótico enrofloxacino. En este caso la biomímica la realiza una película polimérica de 20 micras de espesor con dos procesos de

impresión. Primero se incluyen y eliminan moléculas de la sustancia que queremos detectar para crear moldes moleculares. El segundo es la estampación de una rejilla que actúa como red de difracción. Al sumergir esta película en una disolución con ese antibiótico ocupa los huecos y modifica el índice de refracción del polímero, relacionado con el reconocimiento del antibiótico. ^[66]

6.7 Pruebas de diagnóstico – Biopsias líquidas

Consisten en la realización de un screening para detectar de forma rápida la presencia o ausencia de una patología.

Un caso muy interesante de las mismas, que se sigue investigando actualmente, son las biopsias líquidas. Gracias a ellas podríamos detectar de forma temprana y no invasiva la presencia de cáncer en un paciente, así como monitorizar su respuesta a los tratamientos. ^[67]

Se fundamentan en el hecho de que los tumores secretan células y moléculas a los fluidos corporales, entre ellas material genético (ADN y ARN) que presenta mutaciones características del cáncer. Analizando el ADN libre circulante en la sangre podemos comprobar si presenta o no dichas anomalías. Esto se realiza fundamentalmente por dos procesos: Secuenciación de segunda generación (NGS), detecta las mutaciones en todo el genoma o en un conjunto de genes en muestras de tejido con al menos el 5% mutado, o reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) digital, separando una reacción de PCR en múltiples reacciones y utilizando pruebas fluorescentes ligadas a las distintas secuencias del ADN, cuantificando así las mutaciones del mismo. ^[68]

7. Conclusiones

Tras una búsqueda exhaustiva sobre métodos de screening, centrándonos en aquellos que emplean sensores, y realizando el correspondiente cribado de la información, podemos concluir:

1. Podemos realizar screenings con connotaciones de análisis (filtración de muestras) o de determinación (identificación de analitos).
2. Los sensores cuentan con una primera zona donde se realiza el reconocimiento del analito de manera iónica, molecular o biológica (con necesidad de inmovilizar los elementos que van a realizarlo) y una segunda donde se realiza su transformación en una señal, generalmente de manera electroquímica u óptica.
3. Los métodos de screening que utilizan sensores permiten realizar determinaciones de multitud de analitos sin necesidad de tratamiento de muestra (o mínimo), permitiendo obtener información de manera rápida y económica.
4. La combinación de ambos permite la automatización, miniaturización y simplificación del método. Ejemplo de ello es el uso de multisensores, como narices electrónicas, o determinaciones múltiples con un único sensor, que permiten realizar varios análisis de manera simultánea en un espacio reducido.
5. Tienen gran importancia en el ámbito clínico (realización de pruebas de diagnóstico), pero también se emplean en otras áreas, como controles de calidad, control de tóxicos, controles de drogas y alcohol, medio ambiente, industrias, o laboratorios, puesto que son muy versátiles y pueden adaptarse a diversas condiciones de análisis.

8. Bibliografía

1. Moliner Martínez, Y. Aportaciones de la química analítica a la resolución de diversos problemas medioambientales. Ph.D. Thesis, Universidad de Valencia, 2005, pp 33-34
2. Valcárcel, M.; Cárdenas, M^a.S. Automatización y miniaturización en química analítica; Springer D.L: Barcelona, 2000; pp 3-5
3. Peris, M.; Escuder-Gilavert, L. Electronic noses and tongues to assess food authenticity and adulteration. Trends Food Sci. Technol. 2016, 58, 40-54; DOI: 10.1016/j.tifs.2016.10.014
4. Hae Oh, E.; Seok Song, H.; Hyun Park, T. Recent advances in electronic and bioelectronic noses and their biomedical applications. Enzyme Microb. Technol. 2011, 48, 427-437; DOI: 10.1016/j.enzmictec.2011.04.003
5. Ficha técnica: Certum-hCG Urine/Serum One Step Pregnancy Test; Diagnóstica internacional S.A de C.V; Jalisco, México
6. Shaposhnik, A.; Moskalev, P.; Zviagin, A.; Chegereva, K.; Ryabtsev, S.; Vasiliev, A.; Shaposhnik, P. Selective gas detection by a single MOX-Sensor. Proceedings. 2017, 1 (4), 594; DOI: 10.3390/proceedings1040594
7. Barrios, C.A.; Zhenhe, C.; Navarro-Villoslada, F.; López-Romero, D.; Moreno-Bondi, M.C. Molecularly imprinted polymer diffraction grating as label-free optical bio(mimetic) sensor. Biosens. Bioelectron. 2011, 26 (5), 2801-2804; DOI: 10.1016/j.bios.2010.11.009
8. Valcárcel, M.; Cárdenas, M^a.S. Automatización y miniaturización en química analítica; Springer D.L: Barcelona, 2000; pp 100
9. Valcárcel, M.; Cárdenas, S.; Gallego, M. Sample screening systems in analytical chemistry. Trends Anal. Chem. 1999, 18 (11), 685; DOI: 10.1016/S0165-9936(99)00167-3
10. Santillán, G.; Bona, E.; Cespedes, G.; Molina, V. Seroprevalencia de triquinosis en pobladores rurales de la provincia de Santa Cruz. Medicina (Buenos Aires, Argent.), 1997, 57 (supl III), 59
11. Consejo en cuanto al funcionamiento de los métodos analíticos y la interpretación de los resultados por parte del Diario Oficial de las Comunidades Europeas (DO L 221 de 17.8.2002, anexo 3)

12. Álvarez Cáceres, R. Estadística aplicada a las ciencias de la salud; Díaz de Santos: Madrid, 2007; pp 118-120
13. Álvarez Cáceres, R. Estadística aplicada a las ciencias de la salud; Díaz de Santos: Madrid, 2007; pp 385-389
14. Álvarez Cáceres, R. Estadística aplicada a las ciencias de la salud; Díaz de Santos: Madrid, 2007; pp 101-105
15. Delgado De la Torre, R. Iniciación a la probabilidad y la estadística; Servei de Publicacions de la Universitat Autònoma de Barcelona: Bellaterra, 2004; pp 113-115
16. Sociedad Española de Reumatología. Manual SER de enfermedades reumáticas, 6th ed.; Barcelona, 2014; pp 15-17
17. Valcárcel, M.; Cárdenas, M^a.S. Automatización y miniaturización en química analítica; Springer D.L: Barcelona, 2000; pp 102
18. Valcárcel, M.; Cárdenas, M^a.S. Automatización y miniaturización en química analítica; Springer D.L: Barcelona, 2000; pp 101-102
19. Valcárcel, M.; Cárdenas, S.; Gallego, M. Sample screening systems in analytical chemistry. Trends Anal. Chem. 1998, 18 (11), 686; DOI: 10.1016/S0165-9936(99)00167-3
20. Valcárcel, M.; Cárdenas, S.; Gallego, M. Sample screening systems in analytical chemistry. Trends Anal. Chem. 1998, 18 (11), 691-692; DOI: 10.1016/S0165-9936(99)00167-3
21. Valcárcel, M.; Cárdenas, S.; Gallego, M. Sample screening systems in analytical chemistry. Trends Anal. Chem. 1998, 18 (11), 692; DOI: 10.1016/S0165-9936(99)00167-3
22. Valcárcel, M.; Cárdenas, S.; Gallego, M. Sample screening systems in analytical chemistry. Trends Anal. Chem. 1998, 18 (11), 692-693; DOI: 10.1016/S0165-9936(99)00167-3
23. Unger-Heumann, M. Strategy of analytical test kits. Fresenius J Anal Chem. 1996, 354, 803-806; DOI: 10.1007/s0021663540803
24. CSIC; CDTI. Introducción a los sensores; Consejo Superior de Investigaciones Científicas: Madrid, 1987; pp 22-23

25. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 2
26. Valcárcel, M.; Luque De Castro, M.D. Flow-Through (Bio)Chemical sensors; Elsevier science B.V; Netherlands, 1994; pp 19-20
27. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 5-8
28. Valcárcel, M.; Cárdenas, M^a.S. Automatización y miniaturización en química analítica; Springer D.L: Barcelona, 2000; pp 97-99
29. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 70-72
30. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 82-88
31. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 89-97
32. De Marcos, S.; Martín, A.; Navarro, J.; Sanz, I.; Galbán, J. Nanobiosensores ópticos. SEBBM. 2017, 192, 19-23
33. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 100
34. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 100-101
35. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 101
36. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 101-102
37. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 102-104
38. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 12-49
39. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 50-66

40. Eggins, B. R. Chemical sensors and biosensors; John Wiley and sons: Chichester, 2003; pp 6
41. Carrera Torres, A.; Cobos Fuentes, M.J.; Gallardo Castillo, I.; Caballero Aguilar, J.; Martínez-Sahuquillo Márquez, A. Quimioluminiscencia como método de screening de cáncer oral. *Av. Odontoestomatol.* 2011, 27 (6), 301-311
42. Zhen, X.; Rong, L.; Cheng Ng, W.; Ong, C.; Hun Baeg, G.; Zhang, W.; Ni Lee, S.; Fong Yau Li, S.; Dai, Y.; Wah Tong, Y.; Gee Neoh, K.; Wang, C. Rapid toxicity screening of gasification ashes. *Waste Management.* 2016, 50, 93-104; DOI: 10.1016/j.wasman.2016.02.016
43. Hvastkovs, E.G.; Rusling, J.F. Modern approaches to chemical toxicity screening. *Curr. Opin. Electrochem.* 2017, 3, 18-22; DOI: 10.1016/j.coelec.2017.03.013
44. Yan, M.; Zang, D.; Ge, S.; Ge, L.; Yu, J. A disposable electrochemical immunosensor based on carbon screen-printed electrodes for the detection of prostate specific antigen. *Biosens. Bioelectron.* 2012, 38 (1), 355-361
45. Wang, H.; Zhang, Y.; Yu, H.; Su, D.; Ma, H.; Li, H.; Du, B.; Wei, Q. Label-free electrochemical immunosensor for prostate-specific antigen based on silver hybridized mesoporous silica nanoparticles. *Anal. Biochem.* 2013, 434, 123-127; DOI: 10.1016/j.ab.2012.11.012.
46. Cui, L.; Li, Y.; Lu, M.; Tang, B.; Zhang, C. An ultrasensitive electrochemical biosensor for polynucleotide kinase assay based on gold nanoparticle-mediated lambda exonuclease cleavage-induced signal amplification. *Biosens. Bioelectron.* 2018, 99, 1-7; DOI: 10.1016/j.bios.2017.07.028.
47. Kerman, K.; Vestergaard, M.; Tamiya, E. Label-Free electrical sensing of small-molecule inhibition on tyrosine phosphorylation. *Anal Chem.* 2007, 79, 6881-6885; DOI: 10.1021/ac070438i
48. Xu, X.; Nie, Z.; Chen, J.; Fu, Y.; Li, W.; Shen, Q.; Yao, S. A DNA-based electrochemical strategy for label-free monitoring the activity and inhibition of protein kinase. *Chem Commun.* 2009, 0, 6946-6948; DOI: 0.1039/b913943e
49. Ji, J.; Yang, H.; Liu, Y.; Chen, H.; Kong, J.; Liu, B. TiO₂ assisted silver enhanced biosensor for kinase activity profiling. *Chem Commun.* 2009, 0, 1508-1510; DOI: 10.1039/B820738K
50. Pozo Lora, R. Los sensores bioactivos, nuevo método analítico. *Boletín de la Real Academia de Córdoba.* 1991, 120, 157-164

51. Yi, J.; Lee, J.M.; Park, W.I. Vertically aligned ZnO nanorods and graphene hybrid architectures for high-sensitive flexible gas sensors. *Sens, Actuators, B*. 2011, 155, 264-269; DOI: 10.1016/j.snb.2010.12.033
52. Cuong, T.V.; Pham, V.H.; Chung, J.S.; Shin, E.W.; Yoo, D.H.; Hahn, S.H.; Huh, J.S.; Rue, G.H.; Kim, E.J.; Hur, S.H.; Kohl, P.A. Solution-processed ZnO-chemically converted graphene gas sensor. *Mater.Lett.* 2010, 64, 2479-2482; DOI: 10.1016/j.matlet.2010.08.027
53. Ortega Castell, E. Desarrollo de biosensores ópticos autoindicadores basados en las propiedades ópticas intrínsecas o inducidas de oxidadas y hemoproteínas: Diseño, puesta a punto e implementación de esquemas de detección alternativos. Ph.D. Thesis, Universidad de Zaragoza, 2014, pp 254-272
54. Ortega Castell, E. Desarrollo de biosensores ópticos autoindicadores basados en las propiedades ópticas intrínsecas o inducidas de oxidadas y hemoproteínas: Diseño, puesta a punto e implementación de esquemas de detección alternativos. Ph.D. Thesis, Universidad de Zaragoza, 2014, pp 329-350
55. Ortega, E.; De Marcos, S.; Galbán, J. Fluorimetric enzymatic auto indicating biosensor for HO determination based on modified catalase. *Biosens. Bioelectron.* 2013, 41, 150-156; DOI: 10.1016/j.bios.2012.08.001
56. Liu, X.F.; Miao, L.K.; Jiang, X.; Ma, Y.W.; Fan, Q.L.; Huang, W. Highly sensitive fluorometric Hg^{+2} biosensor with mercury (II)-Specific oligonucleotide (MSO) probe and water-soluble graphene oxide (WSGO). *Chin. J. Chem.* 2011, 29, 1031-1035; DOI: 10.1002/cjoc.201190175
57. Zhao, X.H.; Kong, R.M.; Zhang, X.B.; Meng, H.M.; Liu, W.N.; Tan, W.H.; Shen, G.L.; Yu, R.Q.; Graphene DNAzyme based biosensor for amplified fluorescence “turn-on” detection of Pb^{+2} with a high selectivity. *Anal. Chem.* 2011, 83, 5062-5066; DOI: 10.1021/ac200843x
58. Huang, W.T.; Shi, Y.; Xie, W.Y.; Luo, H.Q.; Li, N.B. A reversible fluorescence nanoswitch based on bifunctional reduced graphene oxide: use for detection of Hg^{+2} and molecular logic gate operation. *Chem.Comm.* 2011, 47, 7800-7802; DOI: 10.1039/C1CC11631B
59. Wen, Y.Q.; Peng, C.; Li, D.; Zhuo, L.; He, S.; Wang, L.; Huang, Q.; Xu, Q.H.; Fan, C. Metal ion-modulated graphene-DNAzyme interactions: design of a nanoprobe for fluorescent detection of lead (II) ions with high sensitivity, selectivity and tunable dynamic range. *Chem. Commun.* 2011, 47, 6278-6280; DOI: 10.1039/c1cc11486g

60. Kochmann, S.; Hirsch, T.; Wolfbeis O.S. Graphenes in chemical sensors and biosensors. *Trends Anal. Chem.* 2012, 39, 105; DOI: 10.1016/j.trac.2012.06.004
61. Ficha técnica: Certum-hCG Urine/Serum One Step Pregnancy Test; Diagnóstica internacional S.A de C.V; Jalisco, México
62. Prada- Pérez de Azpeitia, F.; Martínez-Pons, J- Alcohol y alcoholímetros, historia, fundamentos científicos y aplicación didáctica. *Anales de la Real Sociedad Española de Química.* 2003(.1), 53-61
63. Mahdi-Bordbar, M.; Tashkhourian, J.; Hemmateenejad, B. Qualitative and quantitative analysis of toxic materials in adulterated fruit pickle samples by a colorimetric sensor array. *Sens. Actuators, B.* 2018, 257, 783-791; DOI: 10.1016/j.snb.2017.11.010
64. Shaposhnik, A.; Zviagin, A.; Sizask, E.; Ryabtsev, S.; Vasiliev, A.; Shaposhnik, D. Acetone and ethanol selective detection by a single MOX-sensor. *Procedia Eng.* 2014, 87, 1051-1054; DOI: 10.1016/j.proeng.2014.11.343
65. Wujcik, E.K.; Londoño, N.J.; Durik, S.E.; Monty, C.N.; Masel, R.I. An acetylcholinesterase-inspired biomimetic toxicity sensor. *Chemosphere*; 2013, 91, 1176-1182; DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.01.027
66. Barrios, C.A.; Zhenhe, C.; Navarro-Villoslada, F.; Moreno-Bondi, M.C. Molecularly imprinted polymer diffraction grating as label-free optical bio(mimetic) sensor. *Biosens. Bioelectron.* 2011, 26, 2801-2804; DOI: 10.1016/j.bios.2010.11.009.
67. Karachaliou, N.; Mayo-de-las-Casas, C.; Molina-Vila. M.A; Rosell, R. Real-time liquid biopsies become a reality in cancer treatment. *Ann. Transl. Med.* 2015, 3(3), 36; DOI: 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.01.16
68. Husain, H.; Velculescu, V.E. Cancer DNA in the circulation: The liquid biopsy. *JAMA.* 2018, 318 (13), 1272-1273; DOI:10.1001/jama.2017.12131